



Acuaporinas: los canales de agua celulares

Las acuaporinas regulan el paso del agua a través de la membrana celular.

Forman una familia de proteínas muy diversa; se hallan presentes en todos los seres vivos.

Abundan sobre todo en plantas y en el sistema renal de animales

Miriam Echevarría y Rafael Zardoya

El agua, el compuesto más abundante de nuestro cuerpo, es esencial para la vida. Todos los iones, lípidos, azúcares, proteínas y otras macromoléculas que forman parte de las células y su entorno se encuentran disueltos en medio acuoso. Para realizar las funciones que hacen posible la vida, las células deben incorporar nutrientes, hormonas, iones y gases. Y deben también expulsar sustancias de desecho.

Ese intercambio de materia con el entorno se realiza a través de la membrana. Opera un mecanismo de difusión pasiva o se recurre a proteínas transportadoras específicas. La circulación de iones y otras moléculas provoca una distribución desigual de estas sustancias a un lado y otro de la membrana celular.

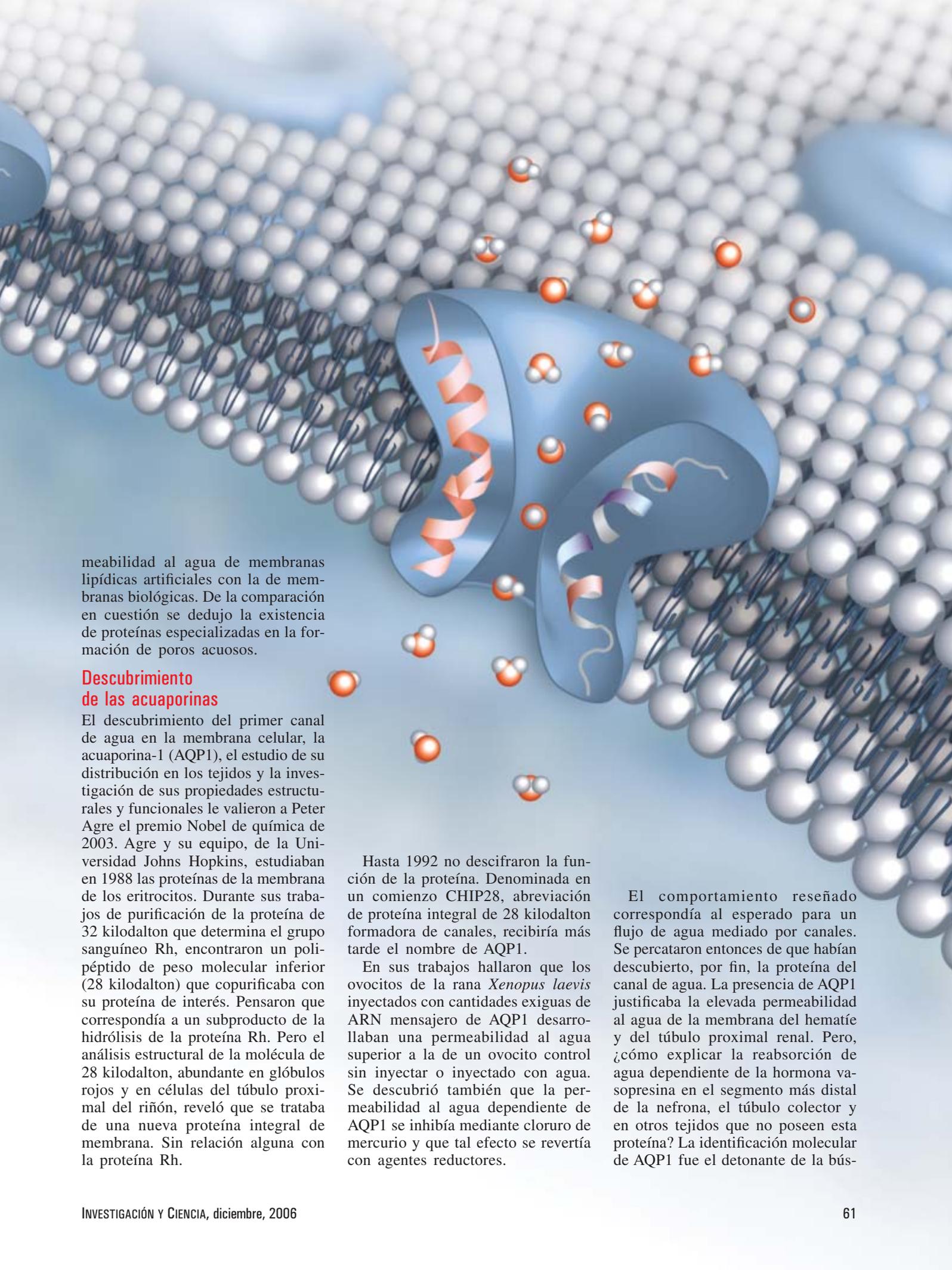
El transporte genera un flujo de agua a través de la membrana. La entrada y salida de agua cambia el volumen de la célula, amén de modificar la composición del medio intracelular y extracelular. Entender cómo el agua atraviesa las membranas celulares en nuestro cuerpo ha constituido una de las cuestiones de mayor interés en biología.

Los primeros modelos teóricos

Ya en 1895, Charles Overton publicó un extenso estudio sobre las propiedades osmóticas de las células, vegetales y animales; analizaba allí el efecto ejercido por más de 500 compuestos químicos en el flujo del agua a través de la membrana celular. Desde entonces, y durante muchos años, se creyó que el agua podía atravesar la membrana celular por difusión pasiva entre los lípidos que constituyen dicha estructura.

Pero la difusión pasiva no permitía explicar la permeabilidad al agua que muestran los glóbulos rojos y las células del túbulo renal; aquí, el flujo de agua a través de la membrana en presencia de un gradiente de concentración era superior al flujo en ausencia de dicho gradiente. Además, la energía disipada por la interacción entre agua y membrana se acercaba a la del movimiento del agua en solución libre. Se descubrió también que el paso del agua a través de estas membranas podía bloquearse mediante fármacos derivados de compuestos mercuriales.

Todas esas observaciones, sumadas a las realizadas en membranas artificiales, permitieron comparar la per-



meabilidad al agua de membranas lipídicas artificiales con la de membranas biológicas. De la comparación en cuestión se dedujo la existencia de proteínas especializadas en la formación de poros acuosos.

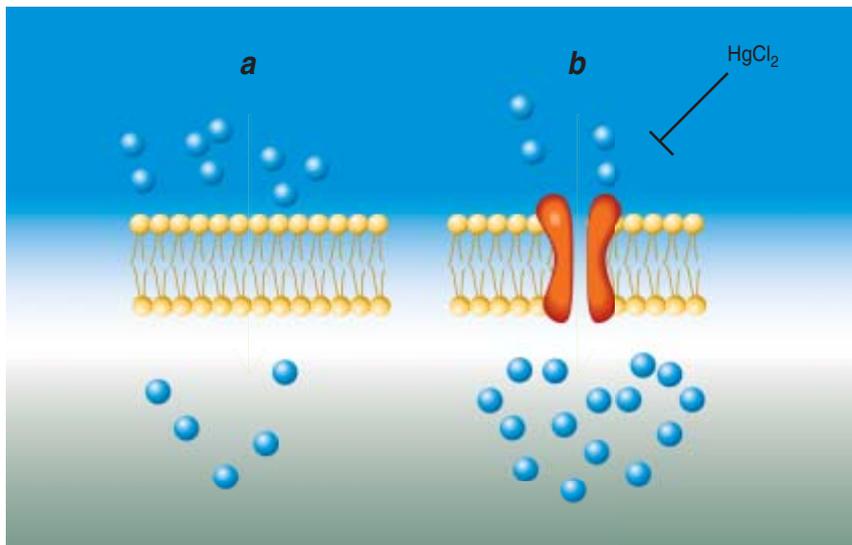
Descubrimiento de las acuaporinas

El descubrimiento del primer canal de agua en la membrana celular, la acuaporina-1 (AQP1), el estudio de su distribución en los tejidos y la investigación de sus propiedades estructurales y funcionales le valieron a Peter Agre el premio Nobel de química de 2003. Agre y su equipo, de la Universidad Johns Hopkins, estudiaban en 1988 las proteínas de la membrana de los eritrocitos. Durante sus trabajos de purificación de la proteína de 32 kilodalton que determina el grupo sanguíneo Rh, encontraron un polipéptido de peso molecular inferior (28 kilodalton) que copurificaba con su proteína de interés. Pensaron que correspondía a un subproducto de la hidrólisis de la proteína Rh. Pero el análisis estructural de la molécula de 28 kilodalton, abundante en glóbulos rojos y en células del túbulo proximal del riñón, reveló que se trataba de una nueva proteína integral de membrana. Sin relación alguna con la proteína Rh.

Hasta 1992 no descifraron la función de la proteína. Denominada en un comienzo CHIP28, abreviación de proteína integral de 28 kilodalton formadora de canales, recibiría más tarde el nombre de AQP1.

En sus trabajos hallaron que los ovocitos de la rana *Xenopus laevis* inyectados con cantidades exiguas de ARN mensajero de AQP1 desarrollaban una permeabilidad al agua superior a la de un ovocito control sin inyectar o inyectado con agua. Se descubrió también que la permeabilidad al agua dependiente de AQP1 se inhibía mediante cloruro de mercurio y que tal efecto se revertía con agentes reductores.

El comportamiento reseñado correspondía al esperado para un flujo de agua mediado por canales. Se percataron entonces de que habían descubierto, por fin, la proteína del canal de agua. La presencia de AQP1 justificaba la elevada permeabilidad al agua de la membrana del hematíe y del túbulo proximal renal. Pero, ¿cómo explicar la reabsorción de agua dependiente de la hormona vasopresina en el segmento más distal de la nefrona, el túbulo colector y en otros tejidos que no poseen esta proteína? La identificación molecular de AQP1 fue el detonante de la búsqueda



1. EL PRIMER MODELO que describía la circulación de agua a través de la membrana celular data de 1895. Según éste, el agua se escurría por difusión pasiva entre los lípidos (amarillo) que constituyen la membrana (a). El estudio de la influencia del gradiente, la energía disipada por la interacción del agua con la membrana, el bloqueo de compuestos mercuriales y la comparación de membranas puramente lipídicas con membranas biológicas llevó a proponer la existencia de proteínas (rojo) especializadas en la formación de poros hídricos (b).

queda que condujo al descubrimiento de las trece acuaporinas que hoy se conocen en humanos.

Lo primero que llamó la atención, al comparar la secuencia de AQP1 con las almacenadas en el banco de genes, fue su estrecha semejanza con miembros de una familia de proteínas integrales de membrana (PIM); entre ellas, la proteína Big Brain de *Drosophila*, la Nodulina26 de la semilla del género *Glycine*, el transportador de glicerol GLpF de *Escherichia coli* y PIM, una proteína de 26 kilodalton que abunda en el cristalino bovino, que da nombre a la familia. AQP1 comparte con ellas varios aminoácidos en determinadas posiciones de la secuencia: todos los miembros de la familia PIM mostraban el triplete asparragina-prolina-alanina (NPA)

repetido dos veces, además de otros aminoácidos individuales a lo largo de la secuencia, muy conservados.

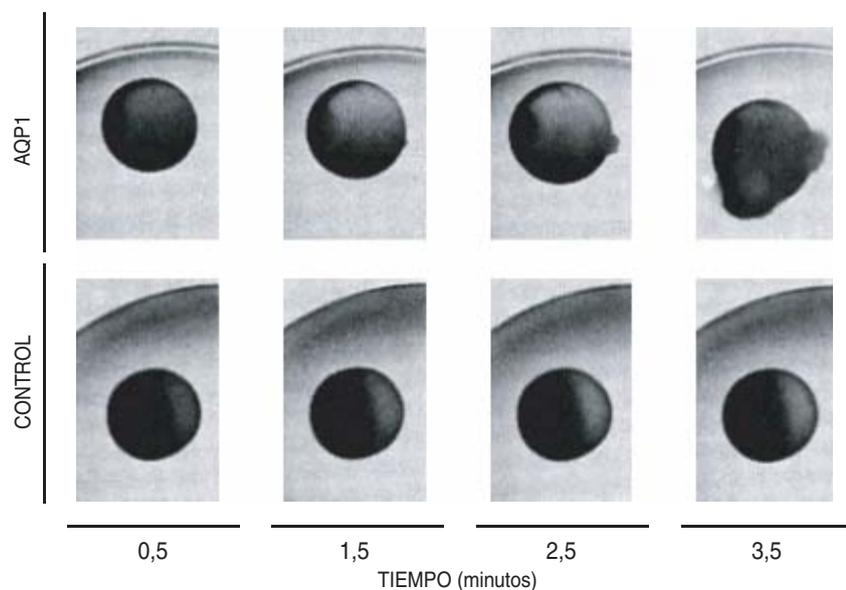
AQP1 consta de dos grandes dominios, imagen especular uno de otro, con un triplete NPA presente en cada mitad, el primero en un lazo intracelular y el segundo en uno extracelular. Se procedió luego a la clonación sucesiva de otras acuaporinas que, en conjunto, forman la familia de proteínas integrales de membrana responsables del transporte de agua. Se nombraron desde AQP2 a AQP12; la proteína PIM se denominó AQP0.

Se siguió el mismo protocolo de clonación para todas ellas. De los tejidos donde se sospechaba la existencia de un nuevo canal de agua se extrajo ARN. A partir de éste se obtuvo, por transcripción inversa, el ADN comple-

mentario. El ADNc se utilizó como molde en una reacción en cadena de la polimerasa, junto con cebadores que reconocerían y se hibridarían a las regiones NPA de cualquier miembro de la familia PIM presente en la muestra de ARN. El grupo de Agre clonó las proteínas AQP1, AQP4, AQP5 y AQP6; el de Sei Sasaki, de la Universidad de Medicina y Odontología de Tokio, identificó las secuencias de AQP2, AQP7, AQP8, AQP9, AQP10, AQP11 y AQP12. En la identificación de AQP3 intervino uno de los autores (Miriam Echevarría).

Un reloj de arena

El tamaño de las acuaporinas suele oscilar entre 250 y 300 aminoácidos. Muy hidrofóbicas, se organizan en seis segmentos de estructura α -hélice que atraviesan la membrana de lado a lado, unidos por cinco lazos conectores. Dos de los lazos (uno extracelular y otro intracelular) se pliegan hacia la membrana y se aproximan para formar el poro. La estructura resultante encierra una zona central estrecha que se ensancha abriéndose hacia ambos lados de la membrana. Este particular plegamiento, en forma de reloj de arena, pone en contacto los tripletes NPA para formar el sitio más estrecho del poro. Aunque cada acuaporina constituye por sí sola un canal, en la membrana celular estas proteínas se ensamblan en grupos de cuatro.



2. OVOCITOS DE LA RANA *Xenopus laevis* inyectados con cantidades reducidas de ARN mensajero de acuaporina-1 (0,1-10 ng). Muestran una permeabilidad al agua superior a la de un ovocito control no inyectado o inyectado con agua.

Por fin, el grupo de Fujiyoshi Yoshinori, de la Universidad de Kyoto, Andreas Engel, de la Universidad de Basilea, y Agre, determinaron la estructura molecular de AQP1 con una resolución de 3,8 angstrom. A partir de este análisis tridimensional se determinó una correlación directa entre aminoácidos específicos y estructura proteica. Los seis segmentos α -hélice transmembranales conforman una suerte de ramo en el que los segmentos se hallan levemente inclinados y girados hacia la derecha. La estructura se mantiene estable merced a los grandes ángulos de cruce de los segmentos transmembrana y a la interacción en los sitios de cruce de glicinas altamente conservadas. Los lazos que conforman la zona central, que también son α -hélices cortas, se proyectan hacia el centro del ramo en ángulo de casi 90 grados para crear la barrera de permeabilidad del canal. Ambos lazos interactúan a través del triplete NPA y se mantienen en contacto mediante fuerzas de van der Waals entre sus prolinas. Dos asparraginas convergen para delimitar el sitio más estrecho del canal, de unos 3 angstrom de diámetro. El diámetro de la molécula de agua es ligeramente inferior: 2,8 angstrom.

Otros aminoácidos conforman el centro del poro acuoso: una isoleucina de la α -hélice 2, una fenilalanina de la α -hélice 1, una leucina de la α -hélice 4 y una valina de la α -hélice 5. Cerca de este sitio, por el lado extracelular del poro, se encuentra la cisteína responsable de la sensibilidad de AQP1 a compuestos mercuriales.

El resto de las paredes que forman la superficie del canal acuoso corresponden a aminoácidos de los segmentos transmembrana 1, 2, 4 y 5. Los segmentos 3 y 6 constituyen las hélices más periféricas del canal; quedan encarados hacia los lípidos de la membrana.

Función y selectividad

El estudio de la función de un canal de agua entraña varias dificultades. Al tratarse de una molécula neutra, su flujo constituye un proceso silente desde el punto de vista eléctrico. Ni puede medirse con las técnicas de electrofisiología clásicas en la investigación de canales iónicos, ni se dispone de inhibidores específicos.

ACUAPORINAS	DISTRIBUCION	
AQP0	Ojo (cristalino)	
AQP1	Eritrocitos Cerebro Riñón Tráquea Corazón Placenta Utero	Uréter y vejiga urinaria Pulmón Bronquios Conductos biliares Piel Endotelio capilar (excepto cerebro) Ojo
AQP2	Túbulo conector y colector renal	Uréter y vejiga urinaria
AQP3	Túbulo colector renal Tracto gastrointestinal Hígado Páncreas Bazo Próstata Uréter y vejiga urinaria	Ojo Glándula lacrimal y sudorípara Pulmón Células meníngeas Eritrocitos Utero
AQP4	Cerebro Tracto gastrointestinal Túbulo colector renal Médula espinal Oído	Pulmón Músculo esquelético Ojo (retina, iris, cuerpo ciliar) Glándula lacrimal
AQP5	Glándula salival Glándula lacrimal Pulmón	Tracto gastrointestinal Córnea Ojo
AQP6	Riñón	
AQP7	Espermátidas tardías y espermias maduros Testículo Tejido adiposo	Túbulo proximal renal Corazón Músculo esquelético
AQP8	Hígado Páncreas Testículo Placenta Utero	Glándula salival Intestino delgado Colon Corazón
AQP9	Tejido adiposo Corazón Colon Leucocitos Hígado Cerebro	Médula ósea Riñón Intestino delgado Pulmón Bazo Testículo
AQP10	Intestino delgado	

3. DISTRIBUCION TISULAR de las acuaporinas de mamíferos (y posiblemente vertebrados).

Para determinar la permeabilidad al agua de células animales suele medirse el cambio de volumen celular que se produce cuando las células pasan de un medio isosmótico a uno hipo o hiperosmótico. La elevada permeabilidad al agua de las membranas biológicas explica la celeridad extrema del flujo.

La identificación molecular de los canales de agua se inició mediante la

extracción del ARN mensajero de tejidos con alta permeabilidad al agua (el riñón, por ejemplo) y la inyección del mismo en ovocitos de *Xenopus laevis*. Se venía recurriendo a los ovocitos de la rana para estudiar la expresión de numerosas proteínas. En el caso de los canales de agua, ofrecían claras ventajas: eran células grandes, con un volumen fácil de medir y una baja permeabilidad intrínseca al agua que

facilitaba la determinación de los cambios de permeabilidad inducidos por la expresión de proteínas exógenas. Hoy la técnica se emplea de forma rutinaria en la caracterización funcional de todas las acuaporinas clonadas para el estudio de las propiedades de permeabilidad al agua, selectividad a otros solutos, dependencia de la temperatura y del pH, amén de otros aspectos funcionales.

La AQP1 presenta una permeabilidad elevada. De las trece acuaporinas de mamífero que hoy conocemos, cuatro de ellas (AQP3, AQP7, AQP9 y AQP10) forman el subgrupo de las acuagliceroporinas, que son permea-

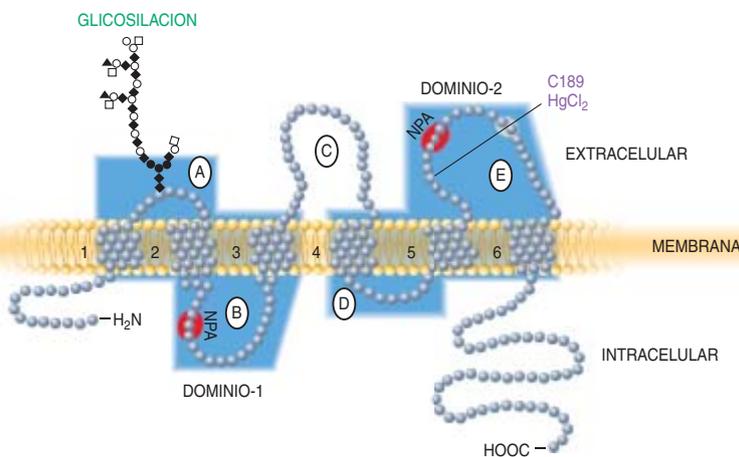
bles también a la urea, el glicerol y a otros solutos de tamaño reducido. Excepto AQP6, tales acuaporinas se muestran impermeables a solutos dotados de carga eléctrica e iones.

La selectividad de las acuagliceroporinas no depende sólo de la estrechez del poro. En algunas, como AQP3, la permeabilidad al glicerol es mucho mayor que a la urea, una molécula de diámetro inferior. En AQP1, los aminoácidos dotados de carga eléctrica de los dos segmentos α -hélice que conforman el paso del canal se orientan con sus polos positivos hacia el centro del poro. Esto genera un importante campo electros-

tático positivo que repele protones y otros cationes, mientras que admite el paso de solutos neutros.

La obstrucción de AQP1 al paso de iones responde también al tamaño de los iones hidratados. En solución, los iones se encuentran rodeados de una capa de agua que aumenta su diámetro. En la acuaporina-1 no existe ninguna estructura que se encargue de liberar al ion de esta capa de solvatación; por tanto, es imposible que pase a través de su diámetro. La estrechez del poro y la notable hidrofobicidad de la superficie interna del canal explican la permeabilidad al agua de AQP1 y su selectividad.

ESTRUCTURA MOLECULAR DE LAS ACUAPORINAS

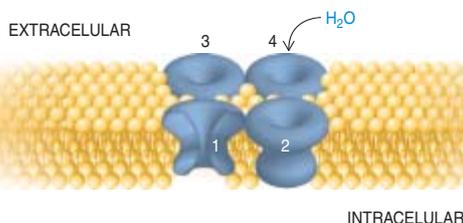
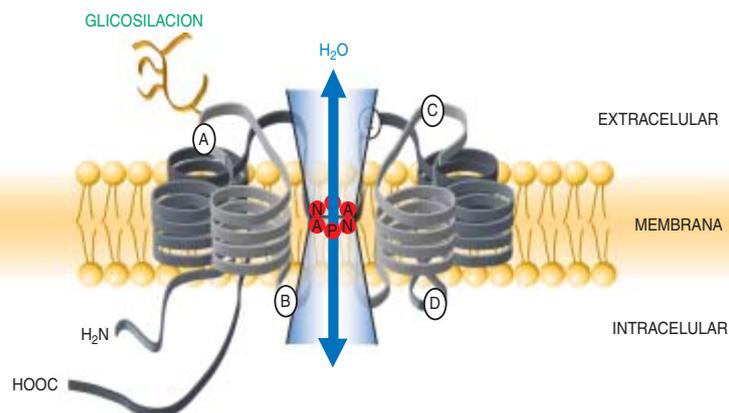


DOS TRIPLETES NPA

AQP1 se compone de dos grandes dominios, imagen especular uno del otro. Se organiza en seis segmentos de estructura α -hélice (1-6) que atraviesan la membrana de lado a lado; están unidos por cinco lazos conectores (A-E). El lazo intracelular B y el extracelular E son portadores de un triplete asparragina-prolina-alanina NPA. Esta duplicación del triplete NPA es característica de todas las acuaporinas.

EL RELOJ DE ARENA

El lazo B y E se pliegan hacia la membrana para formar el poro o canal acuoso de la proteína. La estructura resultante encierra una zona central estrecha que se ensancha abriéndose hacia ambos lados de la membrana. Se denominó "reloj de arena", por su semejanza con éste. En el sitio más estrecho del poro acuoso se ponen en contacto los triplete NPA.



DE CUATRO EN CUATRO

Aunque cada acuaporina forma por sí sola un canal, en la membrana celular estas proteínas se ensamblan en grupos de cuatro. Parece que un arreglo tetramérico confiere a la estructura una mayor estabilidad en el entorno lipídico de la membrana.

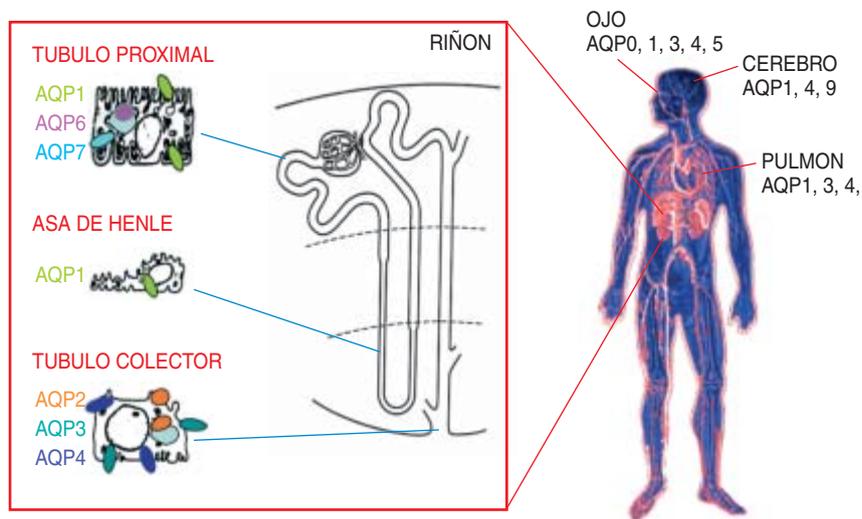
El transporte de agua paso a paso

Dentro del canal, las moléculas de agua tienden puentes de hidrógeno entre sí y con las paredes del canal. Sin embargo, a medida que una molécula de agua se acerca a la parte más estrecha del canal, proceda aquélla del interior o del exterior celulares, la intensa carga electrostática positiva de la zona, creada por los lazos que forman el poro, provoca una reorientación de la molécula que obliga a su átomo de oxígeno a tender puentes de hidrógeno con las dos asparraginas del poro. Primero la molécula de agua se une sólo a uno de esos aminoácidos, permaneciendo unida por el otro puente de hidrógeno a la molécula de agua vecina; luego se une a las dos asparraginas, rompiendo así por completo la molécula de agua su conexión con las otras moléculas de agua en el canal. La imposibilidad de tender puentes de hidrógeno con los aminoácidos hidrofóbicos que forman la pared del canal favorece la permeabilidad. Asimismo, en el sitio de mayor constricción del canal se rompe la concatenación de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua que llenan el poro, lo que impide el transporte de protones que se establecería a través de AQP1. La acuaporina-1 es permeable al CO₂. De hecho, la proteína forma un canal para el transporte del dióxido de carbono.

Distribución

La mayoría de las células de nuestro cuerpo poseen acuaporinas. Las células principales del túbulo colector renal, por ejemplo, expresan AQP2, AQP3 y AQP4; los astrocitos y células gliales de determinadas zonas cerebrales, en cambio, expresan sólo AQP4; se han hallado indicios de la presencia de acuaporinas en las neuronas. Desconocemos la razón de tal diversidad.

En coherencia con su función de canal hídrico, el ojo, el riñón, el pulmón, el tracto gastrointestinal o las glándulas secretoras, órganos que se caracterizan por un alto trasiego de agua, presentan varias de estas proteínas. En el cerebro, en cambio, donde escasea el flujo de agua a través de la membrana celular (para minimizar las variaciones del medio extracelular que pudieran afectar a la



4. LAS ACUAPORINAS SE HALLAN PRESENTES en la mayoría de las células de nuestro cuerpo. Las células principales del túbulo colector renal expresan AQP2, AQP3 y AQP4. Los astrocitos y células gliales de determinadas zonas cerebrales expresan sólo AQP4. Los órganos que, como el ojo, el riñón, el pulmón, el tracto gastrointestinal o las glándulas secretoras, se caracterizan por su alto trasiego de agua, presentan varias de estas proteínas. En el cerebro, donde escasea el flujo de agua a través de la membrana celular, hay una presencia y distribución limitadas de AQP.

función neuronal) hay una presencia y distribución limitadas de AQP.

Con excepción de AQP2 y AQP6, las acuaporinas intervienen en la composición de la membrana celular. Tras su síntesis, AQP2 permanece como una proteína de membrana en vesículas intracelulares; sólo bajo la acción de la hormona antidiurética (arginina-vasopresina), las vesículas se fusionan con la cara apical de las células principales del túbulo colector renal; de ese modo las células exponen en la membrana la proteína responsable del aumento de la permeabilidad al agua en dicho túbulo.

La acuaporina-6 es también una proteína intracelular. Se aloja en vesículas que permanecen siempre en el interior de la célula. En la cara apical de otros epitelios encontramos también AQP5. Las acuaporinas 3 y 4 son principalmente de membrana basolateral. AQP1 presenta una distribución ubicua en toda la membrana. AQP8 reside en vesículas intracelulares así como en la cara apical de las células acinares del páncreas. AQP9 parece preferir la parte basolateral de la membrana.

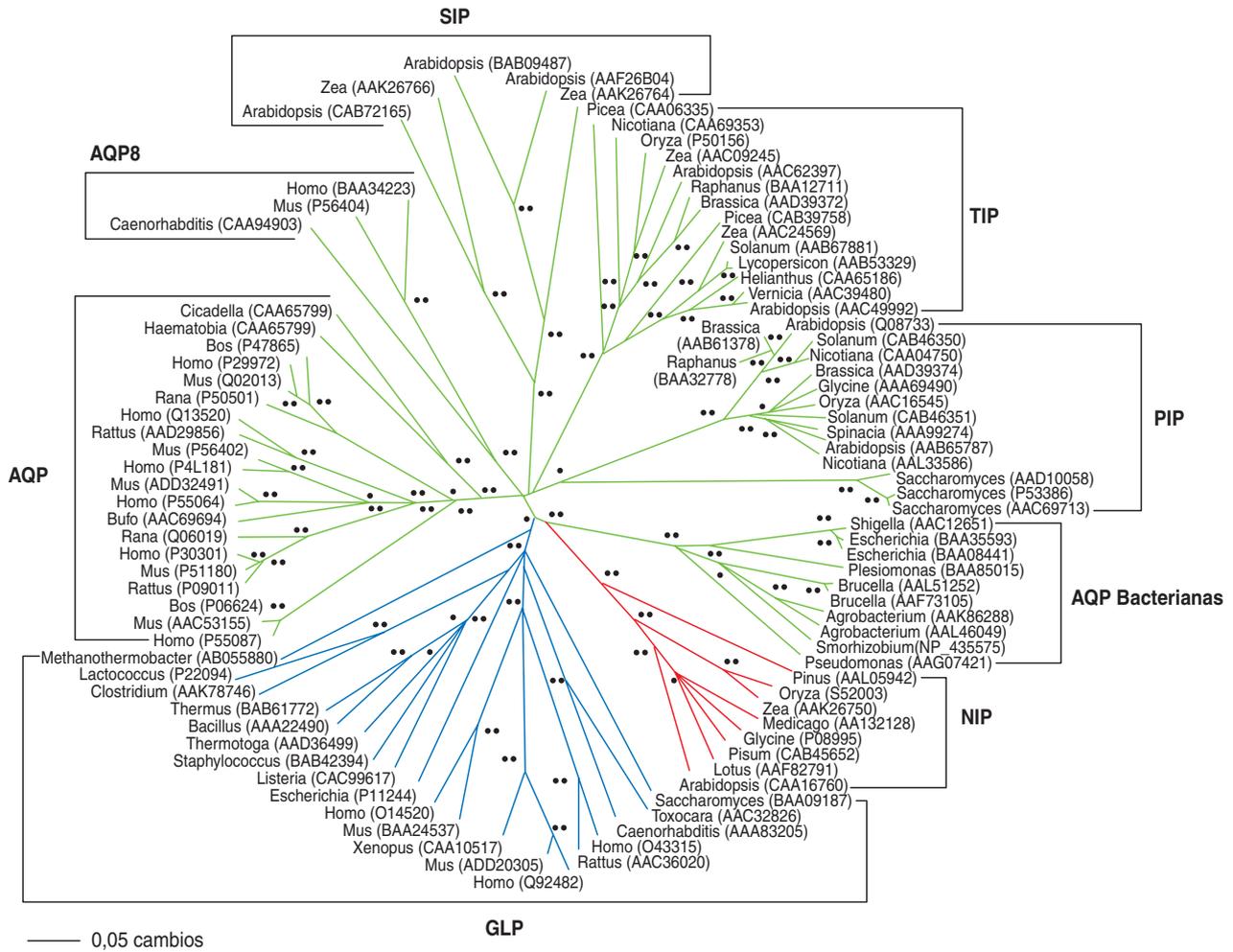
Regulación

Veamos cómo opera la regulación de la acuaporina-2 en el túbulo renal. La unión de la hormona vasopresina

a receptores específicos provoca un aumento del AMP cíclico intracelular. Este mensajero molecular activa la proteína quinasa A (PKA), que se encarga de fosforilar a AQP2. La activación de AQP2 causa entonces la traslocación y fusión de vesículas que contienen AQP2: se funden con la cara apical de la célula renal.

También AQP1, en el hígado, AQP5, en las glándulas salivales, y AQP8, en el páncreas, se transportan desde vesículas intracelulares hasta la membrana celular. En estos casos, sin embargo, no se conoce el mecanismo de regulación. AQP6, presente en vesículas de las células intercaladas del túbulo colector renal, cambia su conformación a $pH < 5,5$: se hace permeable a agua y cloro. El pH regula también la actividad de AQP0 y AQP3. Algunas acuaporinas cuentan con secuencias conservadas para la fosforilación por interacción con proteínas quinasas A (AQP2, AQP5 y AQP9) o proteínas quinasas C (AQP4, AQP5 y AQP7). En algunos casos, la regulación se produce por fosforilación directa del canal. La fosforilación de la acuaporina-2 en la Ser-256 resulta fundamental para el incremento de permeabilidad al agua dependiente de vasopresina.

En fecha reciente se ha propuesto que la interacción directa entre las



5. ARBOL DE LAS RELACIONES DE PARENTESCO DE LAS ACUAPORINAS: canales de agua (*verde*), canales de glicerol y urea (*azul*) y nodulinas (*rojo*). Los puntos en las ramificaciones indican la significación estadística.

acuaporinas y otras proteínas celulares constituiría un mecanismo de señalización. En el extremo C-terminal de la acuaporina-4 se han identificado secuencias de reconocimiento para el anclaje en proteínas del citoesqueleto que podrían determinar la distribución espacial de AQP4 en la membrana del astrocito. La regulación crónica se realiza por diversos mecanismos que alteran la transcripción de tales proteínas.

El número de moléculas de acuaporina-2 aumenta con la vasopresina. Tal regulación se debe a la presencia, en el promotor del gen de AQP2, de regiones que unen AMP cíclico y, por tanto, activan la transcripción del gen. La deshidratación provoca el aumento de AQP3 en el riñón, la vejiga urinaria y los uréteres. Un estrés hiperosmótico estimula la expresión de AQP4 y AQP9 en la corteza cerebral.

Patologías

Numerosos trastornos se han asociado con una distribución aberrante de

las acuaporinas en un órgano determinado. También la alteración en la función o regulación de estas proteínas puede resultar patológica. Determinadas mutaciones en el gen de AQP2 se han relacionado con nefropatías. En el laboratorio de Alan Verkman se obtuvieron ratones “knockout” en los que se había silenciado la expresión de cada una de las acuaporinas. Los muridos transgénicos se utilizaron para el estudio de las alteraciones funcionales que acarrea la ausencia de una de estas proteínas. Se observó que dos mutaciones génicas de AQP0 provocan en ratones cataratas congénitas.

Debido a su ubicuidad, la acuaporina-1 se halla implicada en numerosos trastornos. La presencia de AQP1 en el endotelio de la córnea y de AQP5 en el cristalino sugiere una función de estas proteínas en el mantenimiento de la transparencia de la córnea y el cristalino, respectivamente. AQP1

es responsable de la reabsorción de casi el 80 por ciento del agua en el túbulo renal. Así, los ratones en los que se ha eliminado esta proteína son incapaces de producir orina concentrada. En el cerebro, AQP1 participa en la producción del líquido cefalorraquídeo. En el pulmón, la expresión de AQP1 aumenta al nacer y en presencia de corticosteroides; ello sugiere que la proteína interviene en el aclaramiento del agua pulmonar que requiere el recién nacido para iniciar la respiración.

La disfunción de las cuatro acuaporinas que se expresan en el tracto respiratorio (AQP1, AQP3, AQP4 y AQP5) podría guardar relación con el asma, edemas pulmonares u otras patologías asociadas a la homeostasis del agua pulmonar.

La disfunción de la acuaporina-2 provoca trastornos graves. En 1994, el equipo que dirige Peter Deen, de la Universidad y el Hospital Univer-

sitario de Nimega, publicó el primer caso de diabetes insípida nefrogénica (NDI) hereditaria asociada a mutaciones del gen de AQP2. Los individuos que sufren esta enfermedad eliminan grandes cantidades de orina diluida debido a una insuficiencia renal que impide la reabsorción de agua en respuesta a la vasopresina. Un aumento en la expresión de AQP2 se relaciona con un incremento en la retención de líquido; así ocurre en la cirrosis hepática, la insuficiencia cardíaca congestiva y el embarazo.

Las alteraciones en la expresión de las acuaporinas provocan también trastornos cerebrales. Las AQP4 aberrantes se asocian al desarrollo de patologías relacionadas con desequilibrios en la homeostasis iónica. Una disfunción de la acuaporina-4 podría provocar cambios en la concentración de iones potasio (K^+) que lleven a un aumento de la excitabilidad neuronal. La relación entre la AQP4 y el edema cerebral se descubrió mediante experimentos llevados a cabo con ratones en los que la expresión de AQP4 se había silenciado. Se ha observado también que el edema que se produce tras un período isquémico puede reducirse de forma notable mediante la eliminación de la AQP4 perivascular.

Evolución por duplicación génica

Como hemos mencionado, las acuaporinas pertenecen a la familia de proteínas integrales de membrana (PIM). Esta familia agrupa a más de 200 miembros. Su evolución arranca de la duplicación de un gen originario, que supuso la aparición de dos proteínas con funciones diferenciadas: los canales de agua y los canales de glicerol y urea. Esta es la situación que se observa hoy en bacterias y hongos, que cuentan sólo con una copia de cada uno de estos canales. Luego, ambos tipos de canales se diversificaron mediante duplicaciones génicas en animales y plantas. En *Arabidopsis* se han identificado hasta 35 proteínas; ello resalta la importancia del control del flujo de agua en las plantas.

Las proteínas transportadoras de glicerol han experimentado numerosas duplicaciones en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*. En mamíferos, tres duplicaciones han dado

lugar, de forma sucesiva, a AQP3, AQP7, AQP9 y AQP10. Curiosamente, no hay miembros de esta subfamilia en plantas.

En vertebrados encontramos seis canales de agua resultantes de duplicaciones génicas consecutivas: AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5 y AQP6. El número de acuaporinas se desconoce en invertebrados; hasta la fecha, se ha descrito sólo una AQP en tres especies de insectos. La acuaporina-8 se encuentra en todos los animales.

El mayor número de acuaporinas se encuentra en el reino vegetal. La caracterización de los canales de agua en plantas se debe sobre todo a dos grupos de investigación, el de Maarten J. Chrispeels, de la Universidad de San Diego en California, y el de Per Kjellbom, de la Universidad de Lund. La primera acuaporina que se aisló en plantas se denominó ALFA-TIP.

De acuerdo con su origen evolutivo, se conocen cuatro grandes grupos de canales de agua en plantas. Cada grupo presenta una localización celular diferencial: las proteínas intrínsecas de membrana plasmática (PIP), las proteínas intrínsecas del tonoplasto o membrana vacuolar (TIP), las pequeñas proteínas básicas intrínsecas (SIP) y las nodulinas (NIP). Las proteínas intrínsecas de membrana plasmática parecen derivar de una única duplicación génica que

dio lugar a dos tipos básicos de PIP: el tipo 1 y el tipo 2. Las proteínas intrínsecas del tonoplasto resultan de al menos dos duplicaciones génicas sucesivas.

De todas las acuaporinas vegetales, las que revisten mayor interés desde el punto de vista evolutivo son las nodulinas. Se describieron en los nódulos simbióticos de las raíces de leguminosas, pero se encuentran también en plantas sin nódulos simbióticos. Según los análisis de parentesco, todas las nodulinas descenderían de un mismo tipo de canales de agua que fue adquirido por el ancestro común de todas las plantas a partir de bacterias por transferencia génica horizontal. Luego, puesto que las plantas carecen de transportadores de glicerol-urea, estos canales de agua habrían cambiado su función: una fuerte presión selectiva los transformó en los actuales canales de glicerol-urea.

Dado que las nodulinas adquirieron su capacidad de transportar glicerol-urea de forma distinta al resto de acuagliceroporinas (mediante convergencia funcional), los aminoácidos implicados en la selectividad por glicerol-urea son también distintos. La secuencia de las nodulinas guarda semejanza con la secuencia típica de los canales de agua, pero presenta algunos cambios, necesarios para su función, que recuerdan a las acuagliceroporinas.

Los autores

Miriam Echevarría Irusta se doctoró en biología por la Universidad Simón Bolívar de Caracas. Es profesora de la Universidad de Sevilla. Se dedica al estudio funcional de las acuaporinas en el departamento de fisiología médica y biofísica del Laboratorio de Investigaciones Biomédicas del Hospital Virgen del Rocío. **Rafael Zardoya San Sebastián** se doctoró en biología por la Universidad Complutense de Madrid. Desarrolla su investigación sobre filogenia y evolución molecular en el Museo Nacional de Ciencias Naturales del CSIC.

Bibliografía complementaria

- APPEARANCE OF WATER CHANNELS IN *XENOPUS* OOCYTES EXPRESSING RED CELL CHIP28 PROTEIN. G. M. Preston y otros en *Science*, vol. 256, págs. 385-387, 1992.
- CLONING AND EXPRESSION OF AQP3, A WATER CHANNEL FROM THE MEDULLARY COLLECTING DUCT OF RAT KIDNEY. M. Echevarría y otros en *Proceeding of National Academy of Sciences USA*. vol. 91, págs. 10997-11001, 1994.
- STRUCTURAL DETERMINANTS OF WATER PERMEATION THROUGH AQUAPORIN-1. K. Murata y otros en *Nature*. vol. 407, págs. 599-605, 2000.
- ORIGIN OF PLANT GLYCEROL TRANSPORTERS BY HORIZONTAL GENE TRANSFER AND FUNCTIONAL RECRUITMENT. R. Zardoya y otros en *Proceeding National Academy of Sciences USA*. vol. 99, págs. 14893-14896, 2002.